

TELOMEERIEN YHTEYS LEPOHEMODYNAMIikkaAN

Milja Honkonen
Syventävien opintojen kirjallinen työ
Tampereen yliopisto
Lääketieteen yksikkö
Elokuu 2015

Tampereen yliopisto
Lääketieteen yksikkö
Sisätautien tutkimusryhmä

HONKONEN MILJA: TELOMEERIEN YHTEYS LEPOHEMODYNAMIikkaan

Kirjallinen työ, 28 s.
Ohjaajat: Professori Ilkka Pörsti ja professori Frej Fyhrquist

Elokuu 2015

Avainsanat: lepohemodynamiikka, telomeeri

TIIVISTELMÄ

Telomeerit ovat kromosomien päissä sijaitsevia DNA-segmenttejä, jotka mahdollistavat DNA:n täydellisen kahdentumisen ja suojaavat kromosomeja tarttumiselta toisiinsa sekä DNA:n korjausmekanismeilta. On jo kauan tiedetty, että telomeerit lyhentyvät joka solunjakautumisella, ja että niiden lyhentymisen aiheuttaa lopulta solun vanhenemisen ja apoptoosin. Vanhentuessaan esimerkiksi endoteelisolut erittävät vähemmän typpioksidia, mikä huonontaa valtimon kykyä laajentua.

Tutkimuksen tarkoituksena oli selvittää, onko telomeerien keskipituudella tai lyhyiden telomeerien prosentuaalisella osuudella yhteyttä lepohemodynamiikan suureisiin.

Telomeerien määrittäminen tehtiin Southern blot -menetelmällä ja koehenkilöiden hemodynamiikan mittaukset tehtiin käyttäen jatkuvaa tonometristä verenpainemittausta ranteesta, pulssiaaltoanalyysia (SpygmoCor^R) ja impedanssikardiografiaa (CircMon^R). Tutkittavina oli 578 henkilöä, joilla ei ollut käytössä mitään suoraan verenkiertoelimistöön vaikuttavia lääkkeitä.

Univariaattianalyyseissa radiaalisilla ja sentraalisilla verenpaineilla, aortan pulssipaineella, paineheijasteilla, ääreisverenkierron vastuksella ja pulssiaallon etenemisnopeudella oli tilastollisesti merkitsevä korrelaatio keskimääräisen telomeeripituuden kanssa. Lisäksi univariaattianalyyseissa iällä, BMI:llä, aortan systolisella paineella, aortan pulssipaineella, paineheijasteilla ja pulssiaallon etenemisnopeudella oli tilastollisesti merkitsevä yhteys lyhyiden telomeerien prosentuaaliseen osuuteen. Monimuuttuja-analyyseissa telomeerien ja lepohemodynaamikan suureiden väliltä ei löytynyt yhtään itsenäistä yhteyttä (kaikilla tutkituilla muuttujilla $P > 0,05$). Telomeeripituus tai lyhyiden telomeerien osuus ei siis näytä assosioituvan muutoksiin lepohemodynamiikassa.

SISÄLLYS

1	JOHDANTO	1
1.1	Telomeerit	1
1.2	Solun ja verenkiertoelimistön vanheneminen ja telomeerien lyhentyminen.....	2
1.3	Telomeerien pituuden säätely	4
1.4	Valkosolujen telomeerien pituus ja sydän-ja verisuonisairaudet.....	4
2	MENETELMÄT	7
2.1	Aineisto	7
2.2	Hemodynamiikan mittausprotokolla	7
2.3	Mittaukset	8
3	TULOKSET.....	10
3.1	Tutkitun populaation kuvaus ja lepohemodynamiikka	10
3.2	Telomeerimuuttujien korreloituminen demografisiin tietoihin ja hemodynaamisiin muuttujiin	12
3.3	Monimuuttuja-analyysi - onko telomeerimuuttujilla itsenäistä selitysosuutta hemodynamiikan suureiden määräytymisessä?	15
4	POHDINTA	19
5	LÄHTEET	23

1 JOHDANTO

1.1 Telomeerit

Telomeeri on DNA-jakso kromosomin päässä ja sen tehtävä on mahdollistaa toiminnallisen DNA:n täydellinen kahdentuminen ja suojata kromosomia päiden tarrautumiselta toisiinsa, DNA:n korjausmekanismeilta ja ei-halutuilta rekombinaatioilta. Jos kromosomin päässä ei olisi telomeeriä, DNA:n korjausmekanismit tunnistaisivat sen katkenneeksi DNA:ksi ja liittäisivät sen johonkin toiseen kromosomiin. (De Lange, 2005.) Telomeerit koostuvat toistuvista nukleotidisekvensseistä, TTAGGG 5'-3'-suuntaan (9-15 kiloemästä ihmisellä). Lisäksi niihin kiinnittyy nukleoproteiineja, joista yleensä käytetään niiden englanninkielisiä nimiä: TIN2-interacting protein, protection of telomeres protein 1, telomeric repeat-binding factors 1 and 2, telomeric repeat-binding factor 2-interacting protein 1, and TERF1-interacting nuclear factor. (Blackburn, 2001; Blackburn et al., 2006; Blasco, 2007.) Nukleoproteiinit muodostavat niin sanotun shelterin-kompleksin eli telosomin, joka suojaa kromosomin päitä DNA:n korjausmekanismeilta ja säätelee telomeraasin aktiivisuutta (De Lange, 2005). Telomeeri alkaa kaksijuosteisena TTAGGG-pätkänä, joka päättyy 3'-päässä yksijuosteiseksi G-rikkaaksi hännäksi. Kun proteiinit tarrautuvat yksijuosteiseen ylimäärähäntään syntyy niin kutsuttu T-looppi (Blackburn, 2001).

Telomeerit lyhentyvät joka solunjakautumisella, kunnes ne saavuttavat tietyn rajapituuden aiheuttaen toimintahäiriön, jolloin solu ei voi enää jakautua. Tällainen solu on ”solusykliarestissa”, joka tarkoittaa, ettei se voi enää jakaantua, mutta on kuitenkin metabolisesti aktiivinen. (Fyhrquist et al., 2013.) Telomeerin lyhentyminen johtuu siitä, että laahaavaa DNA-juostetta ei voida kopioida Okazakin fragmenttien vuoksi loppuun asti (RNA-alukkeelle ei ole paikkaa), jolloin laahaavasta juosteesta jää aina pää kopioimatta ja telomeeri lyhenee (Blackburn, 2000). Koska DNA-polymeraasi ei pysty tekemään uutta DNA:ta kuin yhteen suuntaan, laahaava juoste kopioidaan Okazakin fragmentteina ja johtava juoste yhtenäisenä. RNA-alukkeiden tehtävä on luoda jokaiselle fragmentille aloituskohta, johon DNA-polymeraasi voi kiinnittyä. Ligaasientsyymi liittää fragmentit lopuksi yhteen valmiiksi DNA:ksi. (Sakabe and Okazaki, 1966.) Kun telomeeri lyhenee liikaa, nukleoproteiinit eivät voi enää kiinnittyä siihen ja T-loopin rakenne hajoaa, jolloin se ei enää pysty suojaamaan kromosomin päätä. Tämä aktivoi DNA:n korjausmekanismit ja solusykli-inhibiittorit

p53 ja p16, jolloin solusykli pysähtyy vieden solun replikaatiiviseen vanhenemiseen ja lopulta apoptoosiin (Cesare and Reddel, 2010).

1.2 Solun ja verenkiertoelimistön vanheneminen ja telomeerien lyhentyminen

Solut pystyvät jakautumaan rajallisen lukumäärän verran (Hayflickin raja), kunnes ne etenevät apoptoosiin (Hayflick, 1965). Solujen vanhenemista edesauttaa telomeerien lyhentyminen eli ”kuluminen” ja niiden toimintahäiriöt, mutta myös tekijät, jotka ovat riippumattomia telomeerien pituudesta. Solun vanheneminen ja telomeerien lyhentyminen kertovat enemmän biologisesta iästä kuin kronologisesta iästä, koska solun vanhenemiseen ja telomeerien kulumiseen vaikuttavat voimakkaasti elintavat (Voghel et al., 2007). Solujen vanhenemista aiheuttavat oksidatiivinen stressi, DNA-vauriot ja niiden korjaukset, tulehdukset, mitogeenit eli solunjakautumista lisäävät tekijät ja telomeerien lyhentymisen (Fyhrquist et al., 2013). Solun vanheneminen johtuu joko telomeerien lyhentymisestä (replikaatiivinen vanheneminen) tai stressin aiheuttamista vaurioista (stress-induced premature senescence), jotka aiheutuvat DNA-vaurioista, onkogeenien mitogeenisistä signaaleista ja muista tekijöistä, jotka ovat riippumattomia telomeereistä (Blasco, 2005; Calado and Young, 2009). Vanhentuneet solut ilmentävät enemmän β -galaktosidaasia ja p16:sta ja p53:sta, jotka ovat solusyklin inhibiittoreita (Fumagalli et al., 2012).

Ikääntyvien verisuonien komplianssi vähenee ja tulehdukselliset muutokset lisääntyvät (Marín and Rodríguez–Martínez, 1999). Myös angiogeneesi heikentyy vanhenevissa suonissa (Rivard et al., 1999) ja typpioksidin tuotanto vähenee (Sato et al., 1993). Nämä tekijät huonontavat verisuonen kykyä laajentua (Marín and Rodríguez–Martínez, 1999). Vanhoissa verisuonen sileälihassoluissa tuotetaan vähemmän elastaasia (Robert et al., 1998), mutta enemmän fibronektiiniä (Kumazaki et al., 1993). Nämä muutokset vaikuttavat solunulkoisen väliaineen koostumukseen. Ikääntyvissä suonissa fibroblastit ovat resistenttejä apoptoosille (Wang, 1995), kun taas endoteelisolujen apoptoosit tehostuvat (Zhang et al., 2002). Nämä muutokset voivat myötävaikuttaa plakkien eroosioon ja trombooseihin ateroskleroosissa (Mallat and Tedgui, 2001).

Ikääntyvät valtimot jäykistyvät, koska tunica intima paksuuntuu, elastiinin määrä ja suonien seinämän sileälihassolujen määrä vähenee ja kollageenin määrä seinämässä kasvaa (Greenwald, 2007). Suurten valtimoiden jäykistyminen johtaa pulssiaallon etenemisnopeuden kasvuun. Lisäksi jäykistyminen johtaa aikaisempaan paineaallon takaisinheijastumaan, joka taas nostaa systolista

painetta ja pulssipainetta ja vähentää myokardiumin perfuusiota diastolen aikana (Mitchell et al., 2004). Suurten valtimoiden pienentynyt komplianssi johtaa siihen, että sykkivät paineaallot pääsevät vaikuttamaan perifeeriseen verenkiertoon saakka, mikä taas on haitallista esimerkiksi munuaisten ja aivojen mikroverenkierrolle (O'Rourke and Safar, 2005). Nykypäivänä valtimoiden jäykistymistä pidetään itsenäisenä riskitekijänä verenkiertoelimistön sairauksille ja verenkiertoelinperäisille kuolemille (Laurent et al., 2001). Verenkierron säätely vaimenee ikääntyessä, esimerkiksi ortostaattisen hypotension yleisyys on suurempi vanhempien ihmisten joukossa (Rutan et al., 1992). Tähän syynä voivat olla muutokset barorefleksien sensitiivisyydessä, valtimoiden jäykkyydessä, hormonisäätelyssä tai veren jakautumisessa (Kenny et al., 1987; Laitinen, 2004; Mattace-Raso et al., 2006).

Telomeerien pituus on perinnöllistä (Aviv et al., 2001; Sidorov et al., 2009) ja niiden pituuteen vaikuttavat monet sisäiset ja ulkoiset tekijät, joista monet aiheuttavat myös sydän- ja verisuonitauteja. Eräässä tutkimuksessa havaittiin, että lyhyiden telomeerien osuus nousee 0,6 % vuodessa. (Canela et al., 2007.) Hiirillä on havaittu, että lyhyiden telomeerien prosentuaalinen osuus määrää hiiren pitkäikäisyyttä enemmän kuin telomeerien lyhentymisen nopeus (Vera et al., 2012). Täten lyhyiden telomeerien osuudella saattaa olla suurempi vaikutus kuin telomeerien keskipituudella (Hemann et al., 2001; Zou et al., 2004). Telomeerien pituus määritetään yleensä veren leukosyyteistä. Tavallisimmat menetelmät ovat Southern blot -menetelmä ja PCR (Aviv et al., 2011). LTL (leukocyte telomere length) tarkoittaa leukosyyttien telomeerien keskipituutta. Telomeerit ovat syntymähetkellä pisimmillään, mutta lyhentyvät voimakkaasti nuoruusiässä. Lyhentyminen jatkuu vanhuuteen asti, mutta hitaammalla tahdilla. (Sidorov et al., 2009.) Sukupuolella ei ole vaikutusta telomeerien pituuteen syntymähetkellä (Okuda, 2002), mutta julkaistuissa tutkimuksissa on ristiriitaa, vaikuttaako syntymäpaino telomeerien pituuteen (Kajantie et al., 2012; Raqib et al., 2007).

Telomeraasikäänteistranskriptaasi eli telomeraasi ehkäisee telomeerien lyhentymistä katalysoimalla DNA:n synteesiä kromosomin päässä. Somaattisissa soluissa on vain vähän telomeraasia, mutta itusoluissa, kantasoluissa, tietyissä valkosoluissa ja syöpäsoluissa sitä on paljon. (Blackburn, 2001; Fyhrquist et al., 2013.) Ihmisen telomeraasi koostuu RNA-komponentista eli TERC:stä, joka toimii templaattina, ja itse entsyymistä TERT (Blasco, 2007). Telomeraasi tarttuu tiettyyn kohtaan telomeeriä, jonka sekvenssi vastaa telomeraasin omaa RNA-sekvenssiä. Tämän jälkeen telomeraasi lisää emäksiä telomeerin päähän oman RNA-mallinsa mukaan. Kun telomeeri on tarpeeksi pitkä, telomeraasi siirtyy uuteen paikkaan ja toistaa emästen lisäyksen, kunnes telomeeri on niin pitkä, että

DNA-polymeraasi voi täydentää laahaavan juosteen. (Gavory et al., 2002.) Telomeraasiin vaikuttavat geneettiset (Savage et al., 2005) ja ulkoiset tekijät (Jacobs et al., 2011).

1.3 Telomeerien pituuden säätely

Telomeerien pituutta säätelevät monet endogeeniset tekijät. Ikä on suurin telomeerejä kuluttava tekijä, sillä telomeerit lyhentyvät joka solunjakautumisella (Blackburn, 2001; Blasco, 2005). Tulehdukset ja oksidatiivinen stressi (esimerkiksi hapettunut LDL-kolesteroli) kiihdyttävät telomeerien lyhentymistä (von Zglinicki, 2002). Myös korkean kolesterolitason on osoitettu lyhentävän telomeerejä (Timo E. Strandberg et al., 2011). Reniini-angiotensiini -systemin aktivaatio lyhentää telomeerejä (Fyhrquist et al., 2012; Vasan et al., 2008). Geneettiset tekijät vaikuttavat telomeerien alkuperäiseen pituuteen (Jacobs et al., 2011; Levy et al., 2010). Telomeraasi (Blackburn et al., 2006; Blasco, 2007, 2005), estrogeenit (Kyo et al., 1999) ja antioksidantit (von Zglinicki, 2002) inhiboivat telomeerien lyhentymistä.

Myös monet ympäristötekijät vaikuttavat telomeerien pituuteen: tupakka, alkoholi ja ylipaino lisäävät tulehduksellista tilaa ja oksidatiivista stressiä (Strandberg et al., 2012; Timo E. Strandberg et al., 2011; Valdes et al., 2005).

Fyysinen väkivalta lapsuudessa (Kananen et al., 2010) sekä henkinen stressi että masennus ovat yhteydessä telomeerien lyhentymiseen (Epel et al., 2004; Wolkowitz et al., 2011). Terveelliset elämäntavat ja liikunta ehkäisevät telomeerien lyhentymistä (Krauss et al., 2011; Ornish et al., 2008). D-vitamiini estää tulehduksia ja ehkä sitä kautta telomeerien lyhentymistä (Richards et al., 2007), kun taas C- ja E-vitamiinit antioksidanttisen luonteensa takia (Xu et al., 2009). Estrogeenit (Kyo et al., 1999), omega3-rasvahapot (Farzaneh-Far, 2010) ja statiinihoidot (Brouillette et al., 2007) inhiboivat lyhentymistä.

1.4 Valkosolujen telomeerien pituus ja sydän-ja verisuonisairaudet

Verisuonten seinämissä vanhentuneita soluja löytyy eniten ateroskleroottisilta alueilta, kuten on osoitettu aortassa (Nzietchueng, R. et al. 2011) ja sinus caroticuksessa (Benetos et al., 2004).

Vanhentuneet endoteelisolut erittävät vähemmän typpioksidia, jolloin suonet laajenevat vähemmän

ja ateroskleroosin riski kasvaa (Minamino, 2002). Telomeerien lyhentyminen ja verisuonien endoteelin vanheneminen ovat yhteydessä lisääntyneeseen happiradikaalien tuottoon, vähentyneeseen bioaktiivisen typpioksidin tuottoon ja lisääntyneeseen β -galaktosidaasin tuottoon; esimerkiksi ateroskleroottisen alueen endoteelisolut tuottavat enemmän β -galaktosidaasia ja niillä on lyhyemmät telomeerit kuin kontrollisoluilla (Minamino and Komuro, 2007).

Ikääntyvä sydän sisältää normaalisti enemmän vanhoja sydänlihassoluja, joissa on lyhyet telomeerit ja ne ilmentävät p16:ta, p21:tä, p53:ta ja β -galaktosidaasia (Torella, 2004). Sydämen vajaatoiminnasta kärsivillä on lyhyemmät telomeerit ja enemmän vanhoja soluja ja solukuolemia kuin terveille ikääntyvillä sydämillä (Chimenti, 2003).

Ikääntyvä mitokondrio tuottaa lisääntyvästi happiradikaaleja (Chimenti, 2003), jotka aiheuttavat sydänlihassolujen vanhenemista ja telomeerien lyhentymistä. Toimivien sydänlihassolujen määrän väheneminen saattaa aiheuttaa ikään liittyviä sydäntauteja, kuten diastolista sydämen vajaatoimintaa, eteisvärinää ja iskemiaa (Lakatta, 2003a, 2003b). Useissa tutkimuksissa on osoitettu lyhentyneiden telomeerien ja sydäntautien välillä olevan yhteys: Telomeerit olivat lyhyempiä potilailla, jotka olivat yli 50-vuotiaita ja heillä oli ollut sydäninfarkti, kuin terveillä saman ikäisillä (Brouillette, 2003). Potilailla, joilla oli sepelvaltimotaudin aiheuttama sydämen vajaatoiminta (iskeeminen etiologia), oli lyhyemmät telomeerit kuin terveillä saman ikäisillä yksilöillä (van der Harst et al., 2007). Lyhyitä telomeerejä on myös havaittu potilailla, joilla on korkea verenpaine (Jeanclos et al., 2000), naisilla, joilla on ohimeneviä iskeemisiä kohtauksia (Fyhrquist et al., 2011), ja potilailla, joilla on aivohalvaus (Ding et al., 2012). Joissakin tutkimuksissa on kuitenkin tullut ilmi, ettei lyhyiden telomeerien ja aivohalvauksen välillä ole yhteyttä (Fyhrquist et al., 2011; Zee et al., 2010). Erään tutkimuksen mukaan lyhyiden telomeerien ja eteisvärinän välillä ei ole yhteyttä (Roberts et al., 2014). Voi olla myös mahdollista, että sydän- ja verisuonisairaudet aiheuttavat telomeerien kulumista, jolloin telomeerien kulumisella ja näillä sairauksilla olisi samat riskitekijät (tupakointi, korkea verenpaine, korkea kolesteroli, ylipaino ja vähäinen liikunta lisäävät tulehduksia ja oksidatiivista stressiä) (Thorin ja Thorin-Trescases, 2009).

Iän myötä myös verisuonen seinämän uusiutuminen, endoteelifunktio eli typpioksidin ja muiden vasodilatoivien autakoidien muodostuminen ja vapautuminen vähenevät ja happiradikaalien muodostuminen lisääntyy, mikä voi johtaa telomeerien kulumiseen (Fyhrquist et al., 2013). Kardiovaskulaariset riskitekijät näyttivät eräässä tutkimuksessa kiihdyttävän endoteelisolujen vanhenemista sekä telomeerien lyhentymisen kautta että stressivaurioiden (esimerkiksi oksidatiivinen stressi ja tulehdukset) kautta, mikä taas todennäköisesti johtaa ateroskleroosin kehittymiseen (Voghel et al., 2007). Tulokset osoittavat, että oksidatiivinen stressi ja DNA-vauriot

ovat vastuussa endoteelisolujen vanhenemisesta, kun telomeraasia ei kyetä tuottamaan (Voghel et al., 2010).

Hyvät elintavat, reniini-angiotensiini -systeemin estäjät (Imanishi et al., 2005; Wang, 2011) ja statiinit (Brouillette et al., 2007; Spyridopoulos, 2004) ovat parantaneet telomeerien pituuden säilymistä joissakin tutkimuksissa. Syöpäkasvaimet ilmentävät aktiivista telomeraasia, joten on kehitetty telomeraasin inhibiittoreita syövän hoidoksi (Harley, 2008).

2 MENETELMÄT

2.1 Aineisto

Aineisto on peräisin DYNAMIC-tutkimuksesta (*clinicaltrials.gov* rekisteröintinumero NCT01742702) ja käsittää 578 henkilöä, joista 293 (50,7 %) on miehiä. Tutkittujen ikä vaihteli välillä 19–72 vuotta. Henkilöt olivat vapaaehtoisia eikä heillä ollut käytössä sydän- ja verenkiertoelimistöön suoraan vaikuttavia lääkkeitä. Rekrytointi tapahtui useammalla keinolla: Tampereen yliopistolle ja Tampereen yliopistolliselle sairaalalle jaettiin ilmoituksia ja kaksi ilmoitusta julkaistiin paikallisessa lehdessä. Lisäksi Varalan urheilukoulun harjoitusohjelmiin osallistuville ilmoitettiin mahdollisuudesta osallistua tutkimukseen. Tampereen alueella vaikuttaville työterveyshuollon yksiköille jaettiin informaatiota, että terveystarkastuksissa tutkituilla henkilöillä on mahdollisuus osallistua kattavaan verenkiertoelimistön toiminnalliseen tutkimukseen.

Aluksi lääkäri tutki ja haastatteli kaikki potilaat. Haastatteluissa selvitettiin potilaan tupakointitusta, alkoholinkäyttö, fyysinen aktiivisuus, lähisukulaisten sydän- ja verisuonisairaudet, potilaan sairaudet ja lääkitykset. Verinäytteistä määritettiin glukoosi, natrium, kalium, kreatiniini, triglyseridit, kokonaiskolesteroli, HDL- kolesteroli, LDL- kolesteroli ja perusverenkuva 12 tunnin paaston jälkeen. Kaikilta potilailta otettiin 12-kytkentäinen EKG ja mitattiin verenpaine hoitosuositusten mukaisesti.

2.2 Hemodynamiikan mittausprotokolla

Koulutetut tutkimushoitajat tekivät mittaukset. Koehenkilöitä oli ohjeistettu olla juomatta kahvia, olla tupakoimatta ja olla syömättä raskasta ateriaa neljään tuntiin sekä olla juomatta alkoholia vähintään 24 tuntiin ennen mittauksia. Impedanssikardiografian elektrodit asetettiin iholle, pulssiaaltoanalyysin tonometrinen sensori vasempaan ranteeseen, verenpaineen kalibrointimansetti oikeaan olkavarteeseen ja pletysmografinen verenpainemittari oikeaan keskisormeen. Mittauksissa tutkittava oli viisi minuuttia vaaka-asennossa. Hemodynaamiset suureet tallennettiin jatkuvina

muuttujina ilman taukoja. Hemodynamiikan muuttujista laskettiin 3 viimeisen minuutin keskiarvo, koska tällöin signaali oli kaikkein vakain. Näitä lepoahemodynamiikan suureiden keskiarvoja käytettiin vertailussa telomeerimuuttujien kanssa.

2.3 Mittaukset

Hemodynaamisten muuttujien määrittämiseen käytettiin tonometristä sormipaineiden mittausta, pulssiaaltoanalyysia ja impedanssikardiografiaa. Telomeerien pituus määritettiin Southern blot -menetelmällä. Tulokset määritettiin SPSS Statistics 17.0 ohjelmalla.

2.3.1 Pulssiaaltoanalyysi

Radiaalinen verenpaine ja pulssiaalto määritettiin jatkuvasta radiaalisesta pulsaatiosta (arteria radialis) automaattisella tonometrisellä sensorilla (Colin BP-508T; Colin Medical Instruments Corp., USA), joka oli kiinni ranteeseen asetetussa tuessa. Radiaalinen verenpaine kalibroitiin noin 2,5 minuutin välein vastakkaisen olkavarren verenpainemansettimittauksen avulla. Aortan verenpaine määritettiin SphygmoCor pulssiaalto-monitorointi systeemillä (SphygmoCor PWMx; Atcor medical, Australia). Lisäksi määritettiin syke, aortan pulssipaine, aortan paineen takaisinheijastuman aika, augmentaatioindeksi, syketasoon 75/min mukautettu augmentaatioindeksi (AIx@75) ja pulssipaineen voimistuminen (amplifikaatio, radiaalinen ja aorttatason). (Tikkakoski et al., 2013.)

2.3.2 Impedanssikardiografia (ICG)

Koko kehon ICG-laite (CircMon; JR Medical Ltd., Tallinn, Estonia) mittaa jatkuvasti muutoksia kehon sähköisessä impedanssissa sydämen toimintakierron aikana. Se määrittä sykkeen, iskutilavuuden, minuuttitilavuuden ja pulssiaallon etenemisnopeuden. Systeemisen verenkierron vastus ja vasemman kammion työ laskettiin käyttämällä verenpainesignaalia radiaalisesta tonometrisestä sensorista ja minuuttitilavuusindeksistä, jonka ICG-laite oli laskenut. Minuuttitilavuus, systeemisen verenkierron vastus ja vasemman kammion työ suhteutettiin kehon pinta-alaan, jolloin saatiin näiden suureiden vertailukelpoiset indeksit. (Kööbi et al., 2003a; Tikkakoski et al., 2013.)

2.3.3 Telomeerien pituuden määrittäminen

Telomeerien pituus määritettiin Minervan lääketieteellisessä tutkimuslaitoksessa professori Fyhrquistin johtamassa tutkimusryhmässä. Telomeerien pituus määritettiin Southern blot -menetelmällä, joka sopii hyvin isoille aineistoille, mutta vaatii paljon sekä DNA:ta (0,5-1 µg per näyte) että määrittämisajaa.

DNA eristettiin laskimoverestä PureGene-kitillä (Gentra systems, Minneapolis, MN, USA).

Telomeeripituus määritettiin käyttämällä TeloTAGGG-analyysikittiä (Roche Molecular Biochemicals, Basel Switzerland). Näyte-DNA ja kontrolli-DNA paloiteltiin HinfI:lla ja RsaI:lla (Roche) 37 celsiusasteessa kaksi tuntia. DNA-pätkien erottelu tehtiin 0,8 % agarosigeelielektroforeesilla (5 V/cm) 2-3 tuntia. Elektroforeesilaitteessa oli 0,04 mol/l Tris-asetaattia, 0,001 mol/l EDTA:a ja puskuria, joka piti pH:n tasolla 8,0. Elektroforeesin jälkeen DNA-fragmentit siirrettiin Southern blot -menetelmällä positiivisesti varautuneelle nailonkalvolle (Hybond N⁺, Amersham, Little Chalfont, UK) huoneenlämpötilassa (pH 7,0) käyttämällä natriumkloridia (3 mol/l) ja natriumsitraattia (0,3 mol/l). Sen jälkeen siirretty DNA kiinnitettiin nailonkalvoon UV-silloituksella (UV Stratalinker 1800; Stratagene, La Jolla, CA, USA). Tämän jälkeen DNA-fragmentit hybridisoitiin digoxigeniini-leimatuilla koettimilla hybridisaatiouunissa (Techne, Burlington, NJ, USA) 42 celsiusasteessa kolme tuntia.

Nailonkalvoa haudottiin digoxigeniini-spesifisen vasta-aineen kanssa, joka oli kovalenttisesti kiinni alkaalisissa fosfataasissa. Tämän jälkeen näyte saatiin näkyviin fosfataasia metabolisoivan CDP-Star:n avulla. CDP-Star on erittäin herkkä kemiluminesenssi-aine. Sitten kalvo altistettiin Hyperfilm ECL:lle (Amersham) ja tämä filmi analysoitiin Adobe Photoshop- ja Science Lab 99 Image Gauge -ohjelmilla (Fuji Photo Film Co., Ltd, Stanford, CT, USA).

Telomeerien keskipituus arvioitiin kaavalla $\Sigma ODi - \text{tausta} / \Sigma (ODi - \text{tausta} / Li)$, jossa ODi on kemiluminesenssisignaali ja Li on katkaistun telomeerifragmentin pituus kohdassa i. Näytteestä laskettiin myös lyhyiden telomeerien (alle 5 kb) osuus. Tämä tehtiin mittaamalla jokaisen näytteen kokonaiskemiluminesenssin intensiteetti ja signaali-intensiteetti, joka oli alle molekyylikomarkkerin (5 kb). Lyhyiden telomeerien osuus prosentteina laskettiin kaavalla $(\text{kemiluminesenssin signaali-intensiteetti alle 5 kb} - \text{tausta}) \times 100 / (\text{kokonaissignaali-intensiteetti} - \text{tausta})$.

3 TULOKSET

3.1 Tutkitun populaation kuvaus ja lepo hemodynamiikka

Koehenkilöitä oli 578 ja heidän keski-ikänsä oli 45 vuotta. Miesten (n=293) BMI:n keskiarvo oli 27,4 ja naisten (n=285) 26,0 eli miehet olivat hiukan ylipainoisempia kuin naiset. Miesten systolisen verenpaineen vastaanotto keskiarvo oli 146 mmHg ja naisten 135 mmHg. Diastolisen verenpaineen keskiarvo oli miehillä myös hieman korkeampi kuin naisilla (92 vs. 86 mmHg). Taulukossa 1 on esitelty koehenkilöiden kliinisiä ominaisuuksia ja laboratoriotutkimusten tuloksia.

Taulukko 1: Kliiniset ominaisuudet ja laboratoriotulokset keskiarvona (keskihajontana)

	Kaikki (n=578)	Miehet (n=293)	Naiset (n=285)
<i>Ikä (vuosi)</i>	45 (12)	46 (12)	45 (11)
<i>BMI (kg/m²)</i>	26,8 (4,4)	27,4 (3,9)	26,0* (4,7)
<i>Alkoholi (standardiannoksia/viikko)</i>	4 (6)	6 (7)	3 (4)
<i>Nyt tai aikaisemmin tupakoineet (%)</i>	29	33	25
<i>Vastaanottoverenpaineet (mmHg)</i>			
<i>Systolinen</i>	141 (21)	146 (21)	135 (20)
<i>Diastolinen</i>	89 (13)	92 (12)	86 (12)
<i>Kreatiniini (μmol/l)</i>	74 (14)	82 (12)	65* (10)
<i>eGFR (ml/min/1,73 m²)</i>	97 (14)	97 (14)	97 (14)
<i>Hemoglobiini (g/l)</i>	144 (12)	152 (8)	136 (9)
<i>CRP (mg/l)</i>	1,7 (2,9)	1,6 (3,5)	1,7 (1,9)
<i>Natrium (mmol/l)</i>	140 (2)	141 (2)	140 (2)
<i>Kalium (mmol/l)</i>	3,8 (0,3)	3,9 (0,3)	3,6 (0,3)
<i>Uraatti (μmol/l)</i>	302 (77)	348 (67)	256* (55)
<i>Paastoplasma</i>			
<i>Kokonaiskolesteroli (mmol/l)</i>	5,1 (1,0)	5,2 (1,1)	5,1 (1,0)
<i>Triglyseridit (mmol/l)</i>	1,3 (0,99)	1,5 (1,2)	1,1* (0,6)
<i>HDL-kolesteroli (mmol/l)</i>	1,6 (0,44)	1,4 (0,35)	1,8* (0,42)
<i>LDL-kolesteroli (mmol/l)</i>	3,0 (0,96)	3,2 (0,98)	2,8 (0,90)
<i>Glukoosi (mmol/l)</i>	5,3 (0,68)	5,3 (0,78)	5,2 (0,56)

*P < 0,05 miehet vs. naiset BMI = body mass index eli painoindeksi, eGFR = estimoitu glomerulusfiltraatio, CRP = C-reaktiivinen proteiini

Taulukossa 2 kerrotaan lyhyesti koehenkilöiden hemodynamiikan mittaustulosten keskiarvot ja 95 % luottamusvälit. Miesten radiaalisen systolisen paineen keskiarvo oli 140 mmHg ja naisten 131 mmHg. Miesten radiaalisen diastolisen paineen keskiarvo oli 82 mmHg ja naisten 77 mmHg. Miehillä oli siis hieman korkeammat paineet kuin naisilla. Aortan pulssipaineen keskiarvot olivat molemmilla sukupuolilla 43 mmHg. Koehenkilöiden keskisyketaso oli 63 lyöntiä minuutissa eikä sukupuolien välillä ollut merkitsevää eroa.

Taulukko 2: Hemodynamiikan mittaustulosten keskiarvot (95 % luottamusvälit)

	Kaikki	Miehet	Naiset
<i>Rad. systolinen paine (mmHg)</i>	136 (134-137)	140 (138-142)	131 (128-133)
<i>Rad. diastolinen paine (mmHg)</i>	79 (78-81)	82 (81-84)	77 (75-78)
<i>Aortan systolinen paine (mmHg)</i>	123 (122-125)	126 (124-128)	121* (118-123)
<i>Aortan diastolinen paine (mmHg)</i>	80 (79-81)	83 (81-85)	78 (76-79)
<i>Aortan pulssipaine (mmHg)</i>	43 (42-44)	43 (42-44)	43 (42-44)
<i>Augmentaatioindeksi (%)</i>	22,6 (21,6-23,6)	18,6 (17,3-19,9)	26,7* (25,4-28,0)
<i>Augmentaatioindeksi sykkeellä 75 (%)</i>	17,8 (16,8-18,7)	13,3 (12,1-14,6)	22,3* (21,1-23,6)
<i>Aortan augmentaatiopaine (mmHg)</i>	10 (9,8-10,9)	8,6 (5,4-9,3)	12* (11,4-13,0)
<i>Syke (lyöntiä/min)</i>	63 (62,7-64,3)	63 (61-64)	65 (63-66)
<i>Minuuttitilavuusindeksi (%)</i>	2,92 (2,87-2,96)	2,95 (2,89-3,01)	2,88 (2,83-2,94)
<i>Ääreisverenkierron vastusindeksi (dyn*s/cm⁵*m²)</i>	2654 (2604-2704)	2721 (2654-2788)	2585 (2513-2657)
<i>Pulssiaallon etenemisnopeus (m/s)</i>	8,5 (8,3-8,6)	8,9 (8,6-9,1)	8,0* (7,8-8,2)

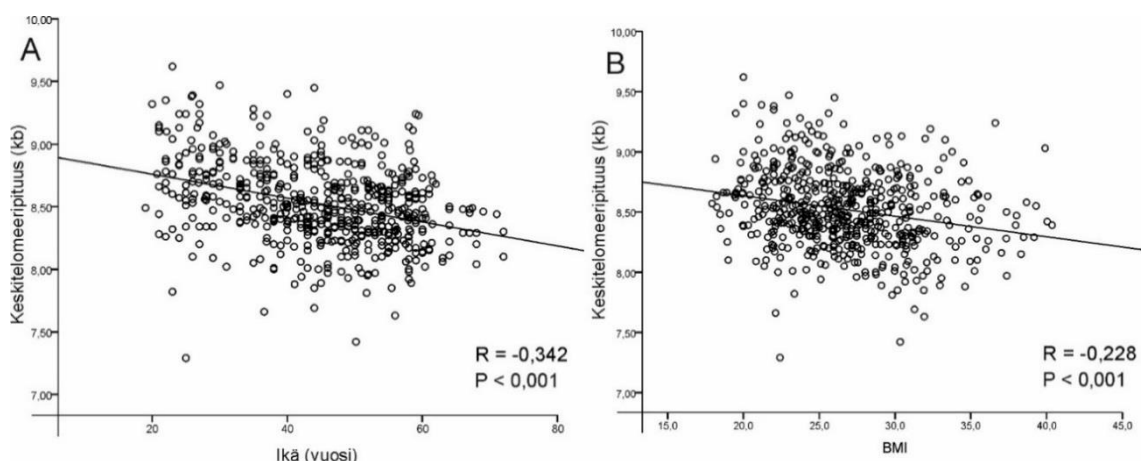
*P < 0,05 miehet vs. naiset

3.2 Telomeerimuuttujien korreloituminen demografisiin tietoihin ja hemodynaamisiin muuttujiin

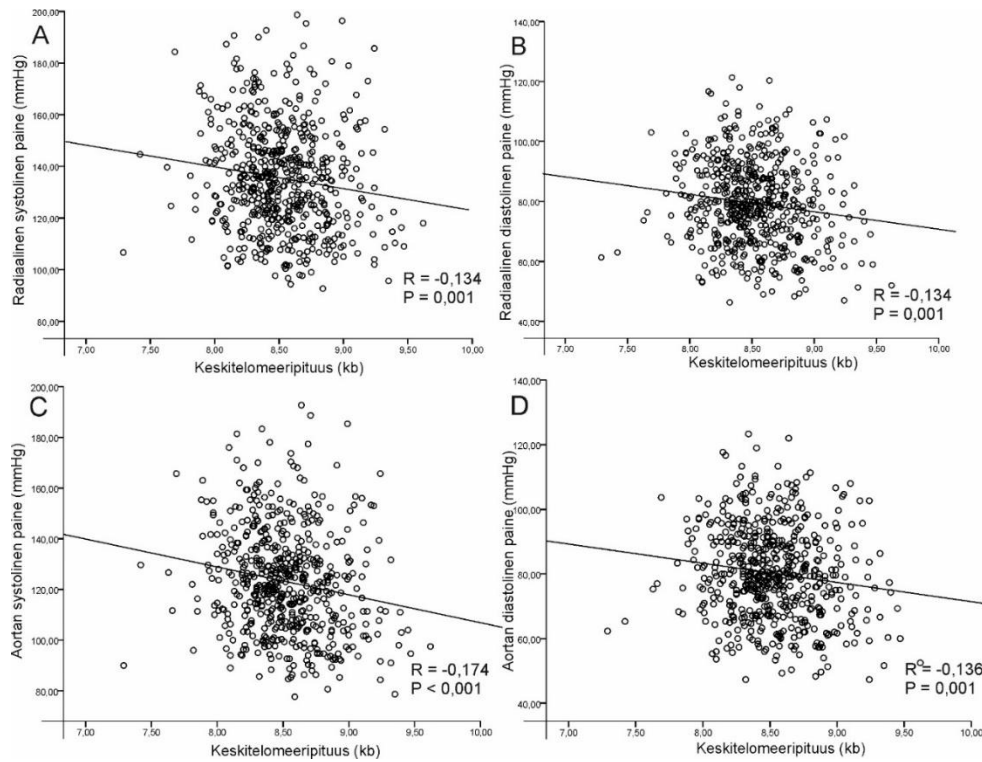
Keskimääräisellä telomeeripituudella on selvä käänteinen korrelaatio iän ja BMI:n kanssa ($P < 0,001$ molemmilla, kuva 1). Kuvat 2-4 esittävät keskitelomeeripituuden korrelaatiota hemodynaamiikan suureisiin. Lähes kaikilla tutkituilla suureilla syketaso ja minuuttitulavuusindeksi pois lukien oli tilastollisesti merkitsevä negatiivinen korrelaatio keskimääräisen telomeeripituuden kanssa.

Univariaattianalyyssissä radiaalisilla ja sentraalisilla verenvälineillä, aortan pulssipaineella, välineheijasteilla, ääreisverenkierron västuksella ja pulssiaallon etenemisnopeudella oli tilastollisesti merkitsevä käänteinen yhteys keskimääräisen telomeeripituuden kanssa.

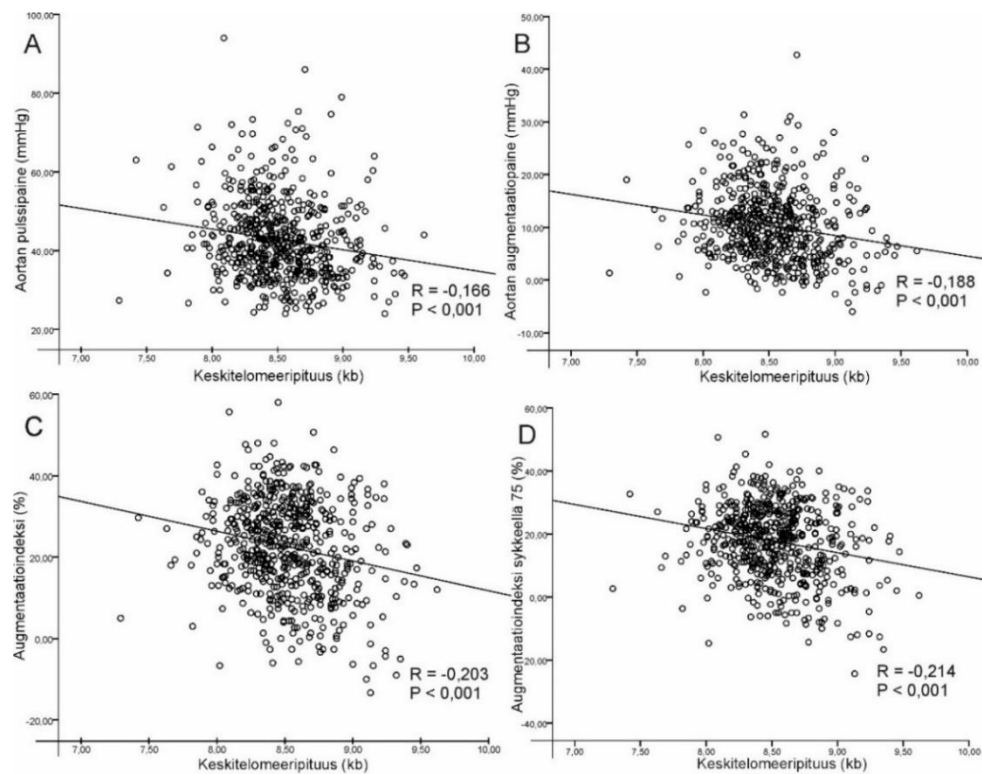
Taulukko 3 esittää lyhyiden telomeerien (alle 5 kb) prosentuaalisen osuuden korrelaatiota hemodynaamiikan suureiden kanssa. Useimpien tutkittujen hemodynaamisten suureiden korrelaatio lyhyiden telomeerien osuuteen oli tilastollisesti merkitsevä: univariaattianalyyssissä iällä, BMI:llä, aortan systolisella välineellä, aortan pulssipaineella ja pulssiaallon etenemisnopeudella oli tilastollisesti merkitsevä yhteys lyhyiden telomeerien prosentuaalisen osuuden kanssa.



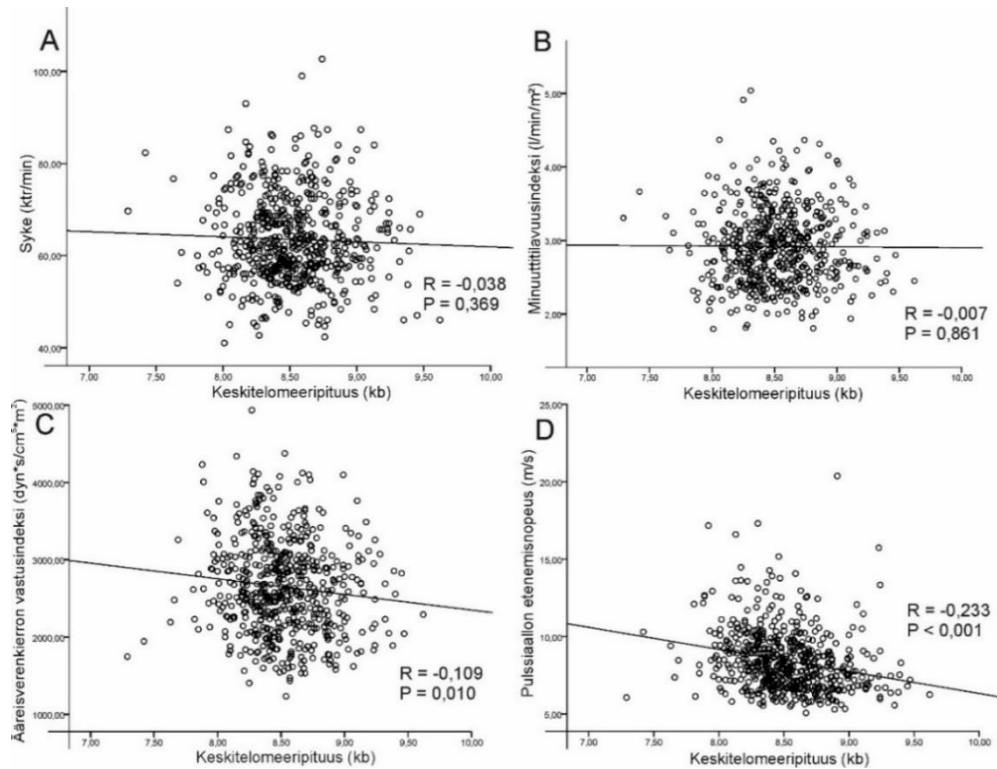
Kuva 1. Iän (A) ja BMI:n (B) korrelaatio keskimääräisen telomeeripituuden kanssa.



Kuva 2. Radiaalisen (A ja B) ja sentraalisen (C ja D) verenpaineen korrelaatio keskimääräisen telomeeripituuden kanssa.



Kuva 3. Aortan pulssipaineen (A) ja paineheijasteiden (B, C ja D) korrelaatio keskimääräisen telomeeripituuden kanssa.



Kuva 4. Sykkeen (A), minuuttitilavuuden (B), äärisverenkierron vastuksen (C) ja suurten valtimosuonten jäykkyyden (D) korrelaatio keskimääräisen telomeeripituuden kanssa.

Taulukko 3: Lyhyiden telomeerien prosentuaalisen osuuden korreloituminen hemodynamiikan suureisiin.

Suure	R	P	N
Ikä (vuosi)	0,335	<0,001	561
BMI (kg/m ²)	0,139	0,001	566
Rad. systolinen paine (mmHg)	0,074	0,077	565
Rad. diastolinen paine (mmHg)	0,063	0,138	564
Aortan systolinen paine (mmHg)	0,108	0,010	565
Aortan diastolinen paine (mmHg)	0,062	0,141	564
Aortan pulssipaine (mmHg)	0,135	0,001	564
Aortan augmentaatiopaine (mmHg)	0,160	<0,001	563
Augmentaatioindeksi (%)	0,167	<0,001	563
Augmentaatioindeksi sykkeellä 75 (%)	0,175	<0,001	563
Syke (krt/min)	0,028	0,505	565
Minuuttitilavuusindeksi (l/min/m ²)	0,024	0,571	564
Äärisverenkierron vastusindeksi (dyn*s/cm ⁵ *m ²)	0,046	0,278	564
Pulssiaallon etenemisnopeus (m/s)	0,223	<0,001	564

3.3 Monimuuttuja-analyysi - onko telomeerimuuttujilla itsenäistä selitysosuutta hemodynamiikan suureiden määräytymisessä?

Taulukoissa 4-6 esitellään monimuuttuja-analyysin tulokset, kun vakiointiin on otettu mukaan sukupuoli, ikä, BMI ja univariaattianalyysissa havaitut tilastollisesti merkitsevät telomeerimuuttujat. Kaikissa tapauksissa analyysi on keskitetty niin, että keskimääräiseksi iäksi on valittu 45 ja BMI-arvoksi 26.

Ensiksi tehtiin monimuuttuja-analyysi radiaalisille ja sentraalisille verenpaineille ja havaittiin, ettei telomeeripituuksilla tai lyhyiden telomeerien osuudella ollut itsenäistä yhteyttä näihin muuttujiin (taulukko 4). Aortan pulssipaineen ja paineheijasteiden monimuuttuja-analyysissa havaittiin myös, että telomeerimuuttujilla ei ollut itsenäistä selittävää osuutta näihin suureisiin (taulukko 5). Sama tulos toistui myös monimuuttuja-analyyseissa koskien syketasoa, minuuttitilavuutta, ääreisverenkierron vastusta ja pulssiaallon etenemisnopeutta (taulukko 6).

Taulukko 4: Monimuuttuja-analyysi, selitettävinä suureina radiaalinen ja sentraalinen paine**4A**

Rad. syst. paine	Keskitelomeeripituus		
	B	Beta	P
(Vakio)	116		
Sukupuoli	7,49	0,184	<0,001
Ikä	0,40	0,227	<0,001
BMI	1,31	0,278	<0,001
Telomeerimuuttuja	1,67	0,027	0,512

4B

Rad. dias. paine	Keskitelomeeripituus		
	B	Beta	P
(Vakio)	68		
Sukupuoli	4,15	0,148	<0,001
Ikä	0,30	0,251	<0,001
BMI	0,80	0,246	<0,001
Telomeerimuuttuja	1,05	0,024	0,555

4C

Aortan syst. paine	Keskitelomeeripituus			Lyhyiden telomeerien % osuus		
	B	Beta	P	B	Beta	P
(Vakio)	113			130		
Sukupuoli	3,24	0,079	0,035	3,36	0,081	0,029
Ikä	0,63	0,357	<0,001	0,66	0,372	<0,001
BMI	1,19	0,251	<0,001	1,19	0,251	<0,001
Telomeerimuuttuja	0,92	0,014	0,715	-0,78	-0,059	0,134

4D

Aortan dias. paine	Keskitelomeeripituus		
	B	Beta	P
(Vakio)	70		
Sukupuoli	3,93	,139	<0,001
Ikä	0,30	0,247	<0,001
BMI	0,81	0,248	<0,001
Telomeerimuuttuja	0,88	0,020	0,623

Taulukko 5: Monimuuttuja-analyysi, selitettävänä suureina aortan pulssipaine ja paineheijasteet

5A

Aortan pulssi- paine	Keskitelomeeripituus			Lyhyiden telomeerien % osuus		
	B	Beta	P	B	Beta	P
(Vakio)	44			44		
Sukupuoli	-0,80	-0,039	0,313	-0,78	-0,038	0,326
Ikä	0,34	0,387	<0,001	0,35	0,392	<0,001
BMI	0,36	0,152	<0,001	0,36	0,153	<0,001
Telomeerimuuttuja	-0,12	-0,004	0,926	-0,084	-0,013	0,756

5B

Aortan aug- mentaatiopaine	Keskitelomeeripituus			Lyhyiden telomeerien % osuus		
	B	Beta	P	B	Beta	P
(Vakio)	17			13		
Sukupuoli	-4,04	-0,300	<0,001	-4,01	-0,297	<0,001
Ikä	0,33	0,569	<0,001	0,34	0,579	<0,001
BMI	0,023	0,015	0,677	0,027	0,018	0,612
Telomeerimuuttuja	-0,50	-0,024	0,497	-0,041	-0,009	0,789

5C

Augmentaatio- indeksi	Keskitelomeeripituus			Lyhyiden telomeerien % osuus		
	B	Beta	P	B	Beta	P
(Vakio)	43			27		
Sukupuoli	-8,77	-0,374	<0,001	-8,69	-0,371	<0,001
Ikä	0,59	0,591	<0,001	0,609	0,606	<0,001
BMI	-0,096	-0,035	0,281	-0,080	-0,029	0,366
Telomeerimuuttuja	-1,81	-0,050	0,127	0,016	0,002	0,948

5D

Augmentaatio- indeksi@75	Keskitelomeeripituus			Lyhyiden telomeerien % osuus		
	B	Beta	P	B	Beta	P
(Vakio)	41			22		
Sukupuoli	-9,81	-0,421	<0,001	-9,73	-0,418	<0,001
Ikä	0,58	0,582	<0,001	0,60	0,597	<0,001
BMI	0,030	0,011	0,722	0,048	0,018	0,568
Telomeerimuuttuja	-2,12	-0,059	0,062	0,079	0,011	0,737

Taulukko 6: Monimuuttuja-analyysi, selitettävinä suureina syke, minuuttitilavuus, ääreisverenkierron vastus ja suurten valtimosuonten jäykkyys

6A

Syke	Keskitelomeeripituus		
	B	Beta	P
(Vakio)	72		
Sukupuoli	-2,49	-0,132	0,002
Ikä	-0,024	-0,030	0,518
BMI	0,32	0,147	0,001
Telomeerimuuttuja	-0,83	-0,029	0,526

6B

Minuuttitilavuus- indeksi	Keskitelomeeripituus		
	B	Beta	P
(Vakio)	3,64		
Sukupuoli	0,099	0,099	0,020
Ikä	-0,002	-0,054	0,233
BMI	-0,022	-0,190	<0,001
Telomeerimuuttuja	-0,088	-0,057	0,201

6C

Ääreisveren- kierron vastus- indeksi	Keskitelomeeripituus		
	B	Beta	P
(Vakio)	1898		
Sukupuoli	56,9	0,047	0,226
Ikä	11,4	0,219	<0,001
BMI	44,7	0,321	<0,001
Telomeerimuuttuja	81,2	0,044	0,290

6D

Pulssiaallon etenemisnopeus	Keskitelomeeripituus			Lyhyiden telomeerien % osuus		
	B	Beta	P	B	Beta	P
(Vakio)	7,87			7,90		
Sukupuoli	0,65	0,163	<0,001	0,64	0,162	<0,001
Ikä	0,090	0,528	<0,001	0,089	0,523	<0,001
BMI	0,084	0,183	<0,001	0,083	0,182	<0,001
Telomeerimuuttuja	0,023	0,004	0,914	0,015	0,011	0,743

4 POHDINTA

Tutkimuksen tarkoituksena oli selvittää, onko keskimääräisen telomeeripituuden tai lyhyiden telomeerien prosentuaalisen osuuden ja lepohemodynamiikan välillä yhteyttä. Keskimääräisellä telomeeripituudella oli selvä käänteinen korrelaatio iän ja BMI:n kanssa, kuten monessa aikaisemmassa tutkimuksessakin on havaittu (Blackburn et al., 2006; Blasco, 2005; T. E. Strandberg et al., 2011; Valdes et al., 2005). Lähes kaikilla tutkituilla hemodynamiikan suureilla oli negatiivinen korrelaatio keskimääräisen telomeeripituuden kanssa. Univariaattianalyysissa radiaalisilla ja sentraalisilla verenpaineilla, aortan pulssipaineella, paineheijasteilla, ääreisverenkierron vastuksella ja pulssiaallon etenemisnopeudella oli tilastollisesti merkitsevä yhteys keskimääräisen telomeeripituuden kanssa. Lyhyiden telomeerien osuuden ja useimpien hemodynamiikan muuttujien välillä oli myös positiivinen korrelaatio: univariaattianalyysissa iällä, BMI:llä, aortan systolisella paineella, aortan pulssipaineella, paineheijasteilla ja pulssiaallon etenemisnopeudella oli tilastollisesti merkitsevä korrelaatio lyhyiden telomeerien prosentuaalisen osuuden kanssa. Kuitenkaan regressioanalyysissä ei löytynyt itsenäistä yhteyttä telomeerimuuttujien ja hemodynamiikan suureiden välillä, kun tuloksia vakioivina tekijöinä otettiin huomioon sukupuoli, ikä ja BMI.

Telomeerien tehtävä on mahdollistaa toiminnallisen DNA:n kahdentuminen ja suojata kromosomien päitä niiden tarrautumiselta toisiinsa ja DNA:n korjausmekanismeilta (De Lange, 2005). Telomeerit kertovat solujen biologisen iän, koska ne lyhentyvät suurimmassa osassa soluja jokaisessa solunjakautumisessa (Voghel et al., 2007). Kun telomeeri lyhenee tietyn mittaiseksi, solu ei enää kykene jakautumaan, vaan joutuu ”solusykliarestiin”, jonka jälkeen solu yleensä etenee apoptoosiin (Fyhrquist et al., 2013). Jotkin solut, kuten kantasolut ja itusolut, ilmentävät telomeraasia, joka ylläpitää telomeerien pituutta, jolloin solut pystyvät jakautumaan lähes rajattomasti (Blackburn, 2001; Fyhrquist et al., 2013). Telomeerien pituuteen vaikuttavat monet elimistön sisäiset ja ympäristön ulkoiset tekijät. Esimerkiksi tulehdukset ja oksidatiivinen stressi kiihdyttävät telomeerien lyhentymistä (von Zglinicki, 2002). Myös alkoholin, tupakan, ylipainon ja esimerkiksi henkisen stressin on todettu vaikuttavan negatiivisesti telomeerien pituuteen ja säilymiseen (Epel et al., 2004; Strandberg et al., 2012; T. E. Strandberg et al., 2011; Valdes et al., 2005).

Ikääntyvissä valtimoissa elastiinin ja suonen seinämän sileälihassolujen määrä vähenee, kun taas kollageenin määrä kasvaa (Greenwald, 2007). Tämä johtaa valtimoiden jäykistymiseen, joka taas aiheuttaa pulssiaallon etenemisnopeuden kasvun ja perifeerisestä verenkierrasta tulevan paineaallon aikaisemman takaisinheijastuman keskeiseen verenkiertoon (Mitchell et al., 2004). Lisäksi ikääntymiseen liittyen valtimoiden kyky laajentua huononee muun muassa vähentyneen typpioksidin tuoton vuoksi (Minamino, 2002). Valtimoiden ikääntyessä myös endoteelisolujen telomeerit lyhentyvät väistämättä solunjakautumisten vuoksi. Toisaalta vanhentuneet endoteelisolut erittävät enemmän happiradikaaleja, jotka taas lyhentävät telomeerejä entisestään (Minamino and Komuro, 2007). Tällöin endoteelisolut itse kiihdyttävät omien telomeeriensä lyhentymistä ja joutuvat noidankehään, jonka tuloksena on lopulta näiden solujen ennenaikainen apoptoosi. Telomeerimuuttujien ja pulssiaallon etenemisnopeuden väliltä löytyi selkeä tilastollisesti merkitsevä yhteys univariaattianalyysissa, joka kuitenkin katosi, kun tuloksissa vakioitiin sukupuoli, ikä ja BMI. Telomeerien lyhentymisen on voimakkaasti riippuvainen iästä, jolloin sen merkitsevyys häviää, kun otetaan ikä mukaan. Tämä ilmiö toistui kaikilla lepohemodynamiikan suureilla.

Tutkimuksessa oli mukana 578 henkilöä, joista lähes puolet oli naisia (49,3 %). Koehenkilöiden ikä vaihteli välillä 19-72 eikä heistä kenelläkään ollut käytössä verenkiertoelimistöön suoraan vaikuttavia lääkkeitä. Koko tutkimuspopulaation keskimääräinen systolinen verenpaine oli 141 mmHg ja diastolinen verenpaine 89 mmHg eli verenpaine oli keskimääräisesti hieman koholla. Keskimääräinen syke oli 63 lyöntiä minuutissa eli normaalitasolla. Koska tutkimuspopulaatio on laaja, ikähaitariltaan suuri ja sukupuolten edustajia on lähes sama määrä, voidaan tutkimuspopulaatiota pitää edustavana ja luotettavana.

Univariaattianalyyseista tuli ilmi monia merkitseviä korrelaatioita. Kuten jo 1990-luvulla on havaittu, henkilöiden ikääntyessä telomeerit lyhentyvät (Harley et al., 1990). Tämä tulos kävi ilmi myös tässä tutkimuspopulaatiossa. Aiemmin on myös raportoitu, että miehillä, joilla on korkea BMI, on myös lyhyemmät telomeerit (T. E. Strandberg et al., 2011). Tämä ilmiö toistui tutkimuspopulaatiollamme, kun mukana olivat sekä miehet että naiset. Aiemmin mainituilla hemodynamiikan suureilla oli tilastollisesti merkitseviä korrelaatioita telomeerimuuttujien kanssa univariaattianalyyseissa. Keskimääräisellä telomeeripituudella oli enemmän merkitseviä korrelaatioita kuin lyhyiden telomeerien prosentuaalisella osuudella. Telomeerien lyhentyessä valtimoiden kyky tuottaa typpioksidia huononee ja samalla niiden kyky laajentua pienenee. Merkitsevät korrelaatiot telomeerimuuttujien ja valtimoiden jäykkyyttä kuvaavien suureiden välillä tukevat tätä väitettä.

Aiemmin on raportoitu, ettei telomeerien pituuden ja vasemman kammion massaindeksiin, ejektiofraktion, pulssiaallon etenemisnopeuden, pulssipaineen ja systolisen sydämen väliseinän supistuvuuden välillä ole yhteyttä (Denil et al., 2014). Meidän tutkimuksessamme monimuuttuja-analyyseissa ei löytynyt yhtään merkitsevää yhteyttä telomeerimuuttujien ja lepoheodynamiikan väliltä. Merkitsevää yhteyttä ei löytynyt edes silloin, kun sukupuolet eroteltiin. Esimerkiksi keskimääräisen telomeeripituuden ja minuuttitilavuuden väliltä ei löytynyt itsenäistä yhteyttä. Monet asiat vaikuttavat minuuttitilavuuteen, kuten syke ja iskutilavuus. Lisäksi iskutilavuuteen vaikuttavat laskimopaluu, johon vuorostaan vaikuttavat esimerkiksi verimäärä, luustolihasen käyttö ja sympaattinen hermosto. Kaikki mainitut vaikuttavat siis myös minuuttitilavuusindeksiin. Tutkittavat olivat levossa mittausten aikana, joten luustolihasen käyttö voidaan sulkea pois. Myös verimäärä pysyi mittausten aikana vakiona. Tällöin sympaattisen hermoston tonus vaikutti mittausten aikana eniten. Sympaattinen hermosto määrää yhdessä parasympaattisen hermoston kanssa myös sykkeen tason. Jos sympaattinen hermosto vaikutti tutkittavien minuuttitilavuuteen eniten mittausten aikana, voisi tästä päätellä, että telomeerien lyhentyminen ei vaikuta ratkaisevasti sympaattisen hermoston toimintaan. Normaalissa fysiologisessa tilanteessa, kun valtimot ovat kimmoiset ja pulssiaallon etenemisnopeus on alhainen, takaisin heijastuva paineaalto palaa takaisin aorttaan diastolen aikana. Endoteelisolujen vanhetessa valtimojäykkyys lisääntyy ja pulssiaallon etenemisnopeus kasvaa, jolloin paineaalto palaa aorttaan jo systolen aikana, jolloin se nostaa vain systolista painetta, mutta ei diastolista. (London and Pannier, 2010.) Telomeerimuuttujien ja valtimojäykkyyttä kuvaavien suureiden, kuten pulssiaallon etenemisnopeuden ja augmentaatioindeksiin, väliltä ei löytynyt tilastollisesti merkitsevää itsenäistä yhteyttä monimuuttuja-analyyseissa.

Tutkimuspopulaation keskimääräinen BMI oli $26,8 \text{ kg/m}^2$, joka vastasi hyvin Finriski 2007 - tutkimuksessa havaittuja keskiarvoja (miehet $27,4 \text{ kg/m}^2$ ja naiset $26,9 \text{ kg/m}^2$) (Lahti-Koski et al., 2012). Koko populaation keskimääräinen vastaanottoverenpaine oli 141/89 mmHg, joka myös vastasi aikaisemmin raportoitua suomalaisten keskimääräistä verenpainetta (145-148/85-90 mmHg) (Wolf et al., 1997). Tutkimus saattaa sisältää valikoitumisharhaa, koska koehenkilöt ottivat yhteyttä tutkimusryhmään oman mielenkiintonsa mukaan. Hemodynamiikan mittauksissa käytettyjen ei-invasiivisten menetelmien on todettu olevan käyttökelpoisia ja luotettavia invasiivisiin menetelmiin verrattuna (Chen et al., 1997; Kööbi et al., 1997) ja tutkimusprotokollan toistettavuuden on myös todettu olevan hyvä (Tahvanainen et al., 2012). Menetelmien ei-invasiivisuus on rajoite, koska minuuttitilavuuden laskeminen bioimpedanssisignaalista vaatii matemaattisia yhtälöitä ja fysiologian yksinkertaistuksia (Koobi et al., 1997). Pulssiaallon etenemisnopeuden tonometrisen

mittauksen puuttumista voidaan pitää tutkimuksemme rajoitteena, koska tonometristä mittausta pidetään valtimojäykkyyden arvioinnin kultaisena standardina (Van Bortel et al., 2012). Kuitenkin impedanssikardiografian avulla saatu pulssiaallon etenemisnopeus korreloi erinomaisesti Doppler-ultraäänellä mitattuun pulssiaallon etenemisnopeuteen (Kööbi et al., 2003b). Southern blot-menetelmän etu on, että sillä voidaan määrittää sekä telomeerien keskipituus että lyhyiden telomeerien prosentuaalinen osuus (Fyhrquist et al., 2013). Lyhyiden telomeerien osuus tuo paljon hyödyllistä tietoa, koska ne vaikuttavat enemmän solujen vanhenemiseen kuin pitkät telomeerit huolimatta siitä, mikä on telomeerien keskipituus. Jopa yksi kriittisen lyhyt telomeeri voi johtaa solun ennenaikaiseen vanhenemiseen. (Hemann et al., 2001.)

Koska käytännössä merkittäviä löydöksiä telomeerien lyhentymisen ja lepohemodynamiikan suureiden väliltä ei löytynyt, tutkimuksemme tulos ei viittaa kausalisuhteeseen telomeerien lyhentymisen ja lepohemodynamiikan välillä. Verenkiertoelimistöä vanhentavat tekijät, kuten oksidatiivinen stressi, tulehdukset, ylipaino ja ikä, vaikuttavat myös lyhentävästi telomeerien pituuteen. Tällöin telomeereillä ei ole suoraa vaikutusta verenkiertoelimistöön, vaan telomeerien lyhentymisellä on samat riskitekijät kuin verenkiertoelimistön vanhenemisella. Telomeerien lyhentyminen on osa ikääntymisprosessia, joten telomeerien ja hemodynamiikan suureiden välillä ei näyttäisi olevan kausaalista yhteyttä. Telomeerit lyhentyvät siis samaa tahtia kuin elimistömme vanhenee. Vanhenemiseen yksilöt eivät voi vaikuttaa, mutta elintapoja parantamalla telomeerien lyhentymistä voidaan hidastaa. Se, että telomeerien keskipituudella ja lyhyiden telomeerien prosentuaalisella osuudella ei ollut merkitsevää korrelaatiota lepohemodynamiikkaan, ei tarkoita, etteikö telomeereillä olisi merkitystä verenkiertoelimistöön vanhenemisen kannalta.

5 LÄHTEET

- Aviv, H., Yusuf Khan, M., Skurnick, J., Okuda, K., Kimura, M., Gardner, J., Priolo, L., Aviv, A., 2001. Age dependent aneuploidy and telomere length of the human vascular endothelium. *Atherosclerosis* 159, 281–287. doi:10.1016/S0021-9150(01)00506-8
- Blackburn, E.H., 2001. Switching and signaling at the telomere. *Cell* 106, 661–673.
- Blackburn, E.H., 2000. The end of the (DNA) line. *Nat Struct Mol Biol* 7, 847–850. doi:10.1038/79594
- Blackburn, E.H., Greider, C.W., Szostak, J.W., 2006. Telomeres and telomerase: the path from maize, Tetrahymena and yeast to human cancer and aging. *Nat Med* 12, 1133–1138. doi:10.1038/nm1006-1133
- Blasco, M.A., 2007. Telomere length, stem cells and aging. *Nat Chem Biol* 3, 640–649. doi:10.1038/nchembio.2007.38
- Blasco, M.A., 2005. Telomeres and human disease: ageing, cancer and beyond. *Nat Rev Genet* 6, 611–622. doi:10.1038/nrg1656
- Brouillette, S., 2003. White Cell Telomere Length and Risk of Premature Myocardial Infarction. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 23, 842–846. doi:10.1161/01.ATV.0000067426.96344.32
- Brouillette, S.W., Moore, J.S., McMahon, A.D., Thompson, J.R., Ford, I., Shepherd, J., Packard, C.J., Samani, N.J., 2007. Telomere length, risk of coronary heart disease, and statin treatment in the West of Scotland Primary Prevention Study: a nested case-control study. *The Lancet* 369, 107–114. doi:10.1016/S0140-6736(07)60071-3
- Calado, R.T., Young, N.S., 2009. Telomere Diseases. *N. Engl. J. Med.* 361, 2353–2365.
- Canela, A., Vera, E., Klatt, P., Blasco, M.A., 2007. High-throughput telomere length quantification by FISH and its application to human population studies. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 104, 5300–5305.
- Cesare, A.J., Reddel, R.R., 2010. Alternative lengthening of telomeres: models, mechanisms and implications. *Nat. Rev. Genet.* 11, 319–330. doi:10.1038/nrg2763
- Chen, C.-H., Nevo, E., Fetis, B., Pak, P.H., Yin, F.C.P., Maughan, W.L., Kass, D.A., 1997. Estimation of Central Aortic Pressure Waveform by Mathematical Transformation of Radial Tonometry Pressure: Validation of Generalized Transfer Function. *Circulation* 95, 1827–1836. doi:10.1161/01.CIR.95.7.1827
- Chimenti, C., 2003. Senescence and Death of Primitive Cells and Myocytes Lead to Premature Cardiac Aging and Heart Failure. *Circ. Res.* 93, 604–613. doi:10.1161/01.RES.0000093985.76901.AF
- De Lange, T., 2005. Shelterin: the protein complex that shapes and safeguards human telomeres. *Genes Dev.* 19, 2100–2110.
- Denil, S.L., Rietzschel, E.R., De Buyzere, M.L., Segers, P., De Bacquer, D., Van Criekinge, W., Bekaert, S., Gillebert, T.C., De Meyer, T., Investigators, A., others, 2014. On cross-sectional associations of leukocyte telomere length with cardiac systolic, diastolic and vascular function: the Asklepios study. *PloS One* 9, e115071.
- Ding, H., Chen, C., Shaffer, J.R., Liu, L., Xu, Y., Wang, X., Hui, R., Wang, D.W., 2012. Telomere length and risk of stroke in Chinese. *Stroke* 43, 658–663.

- Epel, E.S., Blackburn, E.H., Lin, J., Dhabhar, F.S., Adler, N.E., Morrow, J.D., Cawthon, R.M., 2004. Accelerated telomere shortening in response to life stress. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 101, 17312–17315.
- Farzaneh-Far, R., 2010. Association of Marine Omega-3 Fatty Acid Levels With Telomeric Aging in Patients With Coronary Heart Disease. *JAMA* 303, 250. doi:10.1001/jama.2009.2008
- Fyhrquist, F., Saijonmaa, O., Strandberg, T., 2013. The roles of senescence and telomere shortening in cardiovascular disease. *Nat. Rev. Cardiol.* 10, 274–283. doi:10.1038/nrcardio.2013.30
- Fyhrquist, F., Silventoinen, K., Saijonmaa, O., Kontula, K., Devereux, R.B., de Faire, U., Os, I., Dahlof, B., 2011. Telomere length and cardiovascular risk in hypertensive patients with left ventricular hypertrophy: the LIFE study. *J Hum Hypertens* 25, 711–718.
- Gavory, G., Farrow, M., Balasubramanian, S., 2002. Minimum length requirement of the alignment domain of human telomerase RNA to sustain catalytic activity in vitro. *Nucleic Acids Res.* 30, 4470–4480.
- Greenwald, S., 2007. Ageing of the conduit arteries. *J. Pathol.* 211, 157–172. doi:10.1002/path.2101
- Harley, C.B., 2008. Telomerase and cancer therapeutics. *Nat Rev Cancer* 8, 167–179. doi:10.1038/nrc2275
- Harley, C.B., Futcher, A.B., Greider, C.W., 1990. Telomeres shorten during ageing of human fibroblasts. *Nature* 345, 458–460. doi:10.1038/345458a0
- Hayflick, L., 1965. The limited in vitro lifetime of human diploid cell strains. *Exp. Cell Res.* 37, 614–636. doi:10.1016/0014-4827(65)90211-9
- Hemann, M.T., Strong, M.A., Hao, L.-Y., Greider, C.W., 2001. The shortest telomere, not average telomere length, is critical for cell viability and chromosome stability. *Cell* 107, 67–77.
- Imanishi, T., Hano, T., Nishio, I., 2005. Angiotensin II accelerates endothelial progenitor cell senescence through induction of oxidative stress. *J. Hypertens.* 23.
- Jacobs, T.L., Epel, E.S., Lin, J., Blackburn, E.H., Wolkowitz, O.M., Bridwell, D.A., Zanesco, A.P., Aichele, S.R., Sahdra, B.K., MacLean, K.A., King, B.G., Shaver, P.R., Rosenberg, E.L., Ferrer, E., Wallace, B.A., Saron, C.D., 2011. Intensive meditation training, immune cell telomerase activity, and psychological mediators. *Psychoneuroendocrinology* 36, 664–681. doi:10.1016/j.psyneuen.2010.09.010
- Jeanclous, E., Schork, N.J., Kyvik, K.O., Kimura, M., Skurnick, J.H., Aviv, A., 2000. Telomere length inversely correlates with pulse pressure and is highly familial. *Hypertension* 36, 195–200.
- Kajantie, E., Pietiläinen, K.H., Wehkalampi, K., Kananen, L., Raikonen, K., Rissanen, A., Hovi, P., Kaprio, J., Andersson, S., Eriksson, J.G., Hovatta, I., 2012. No association between body size at birth and leucocyte telomere length in adult life--evidence from three cohort studies. *Int. J. Epidemiol.* 41, 1400–1408. doi:10.1093/ije/dys127
- Kananen, L., Surakka, I., Pirkola, S., Suvisaari, J., Lönnqvist, J., Peltonen, L., Ripatti, S., Hovatta, I., 2010. Childhood Adversities Are Associated with Shorter Telomere Length at Adult Age both in Individuals with an Anxiety Disorder and Controls. *PLoS ONE* 5, e10826. doi:10.1371/journal.pone.0010826
- Kenny, R.A., Lyon, C.C., Bayliss, J., Lightman, S.L., Sutton, R., 1987. REDUCED PLASMA RENIN ACTIVITY IN ELDERLY SUBJECTS IN RESPONSE TO VASOVAGAL HYPOTENSION AND HEAD-UP TILT. *Age Ageing* 16, 171–177. doi:10.1093/ageing/16.3.171

- Kööbi, T., Kähönen, M., Iivainen, T., Turjanmaa, V., 2003a. Simultaneous non-invasive assessment of arterial stiffness and haemodynamics – a validation study. *Clin. Physiol. Funct. Imaging* 23, 31–36. doi:10.1046/j.1475-097X.2003.00465.x
- Kööbi, T., Kähönen, M., Iivainen, T., Turjanmaa, V., 2003b. Simultaneous non-invasive assessment of arterial stiffness and haemodynamics – a validation study. *Clin. Physiol. Funct. Imaging* 23, 31–36. doi:10.1046/j.1475-097X.2003.00465.x
- Kööbi, T., Kaukinen, S., Ahola, T., Turjanmaa, V.M.H., 1997. Non-invasive measurement of cardiac output: whole-body impedance cardiography in simultaneous comparison with thermodilution and direct oxygen Fick methods. *Intensive Care Med.* 23, 1132–1137. doi:10.1007/s001340050469
- Koobi, T., Kaukinen, Turjanmaa, V.M.H., Uusitalo, A.J., 1997. Whole-body impedance cardiography in the measurement of cardiac output. *Crit. Care Med.* 25.
- Krauss, J., Farzaneh-Far, R., Puterman, E., Na, B., Lin, J., Epel, E., Blackburn, E., Whooley, M.A., 2011. Physical Fitness and Telomere Length in Patients with Coronary Heart Disease: Findings from the Heart and Soul Study. *PLoS ONE* 6, e26983. doi:10.1371/journal.pone.0026983
- Kumazaki, T., Kobayashi, M., Mitsui, Y., 1993. Enhanced Expression of Fibronectin during in Vivo Cellular Aging of Human Vascular Endothelial Cells and Skin Fibroblasts. *Exp. Cell Res.* 205, 396–402. doi:10.1006/excr.1993.1103
- Kyo, S., Takakura, M., Kanaya, T., Zhuo, W., Fujimoto, K., Nishio, Y., Orimo, A., Inoue, M., 1999. Estrogen activates telomerase. *Cancer Res.* 59, 5917–5921.
- Lahti-Koski, M., Harald, K., Saarni, S.E., Peltonen, M., Männistö, S., 2012. Changes in body mass index and measures of abdominal obesity in Finnish adults between 1992 and 2007, the National FINRISK Study. *Clin. Obes.* 2, 57–63. doi:10.1111/j.1758-8111.2012.00035.x
- Laitinen, T., 2004. Age dependency of cardiovascular autonomic responses to head-up tilt in healthy subjects. *J. Appl. Physiol.* 96, 2333–2340. doi:10.1152/japplphysiol.00444.2003
- Lakatta, E.G., 2003a. Arterial and Cardiac Aging: Major Shareholders in Cardiovascular Disease Enterprises: Part I: Aging Arteries: A “Set Up” for Vascular Disease. *Circulation* 107, 139–146. doi:10.1161/01.CIR.0000048892.83521.58
- Lakatta, E.G., 2003b. Arterial and Cardiac Aging: Major Shareholders in Cardiovascular Disease Enterprises: Part III: Cellular and Molecular Clues to Heart and Arterial Aging. *Circulation* 107, 490–497. doi:10.1161/01.CIR.0000048894.99865.02
- Laurent, S., Boutouyrie, P., Asmar, R., Gautier, I., Laloux, B., Guize, L., Ducimetiere, P., Benetos, A., 2001. Aortic stiffness is an independent predictor of all-cause and cardiovascular mortality in hypertensive patients. *Hypertension* 37, 1236–1241.
- Levy, D., Neuhausen, S.L., Hunt, S.C., Kimura, M., Hwang, S.-J., Chen, W., Bis, J.C., Fitzpatrick, A.L., Smith, E., Johnson, A.D., Gardner, J.P., Srinivasan, S.R., Schork, N., Rotter, J.I., Herbig, U., Psaty, B.M., Sastrasi, M., Murray, S.S., Vasan, R.S., Province, M.A., Glazer, N.L., Lu, X., Cao, X., Kronmal, R., Mangino, M., Soranzo, N., Spector, T.D., Berenson, G.S., Aviv, A., 2010. Genome-wide association identifies OBFC1 as a locus involved in human leukocyte telomere biology. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 107, 9293–9298. doi:10.1073/pnas.0911494107
- London, G.M., Pannier, B., 2010. Arterial functions: how to interpret the complex physiology. *Nephrol. Dial. Transplant.* 25, 3815–3823. doi:10.1093/ndt/gfq614

- Mallat, Z., Tedgui, A., 2001. Current perspective on the role of apoptosis in atherothrombotic disease. *Circ. Res.* 88, 998–1003.
- Marín, J., Rodríguez-Martínez, M.A., 1999. Age-related changes in vascular responses. *Exp. Gerontol.* 34, 503–512. doi:10.1016/S0531-5565(99)00029-7
- Mattace-Raso, F.U., van der Cammen, T.J., Knetsch, A.M., van den Meiracker, A.H., Schalekamp, M.A., Hofman, A., Witteman, J.C., 2006. Arterial stiffness as the candidate underlying mechanism for postural blood pressure changes and orthostatic hypotension in older adults: the Rotterdam Study. *J. Hypertens.* 24.
- Minamino, T., 2002. Endothelial Cell Senescence in Human Atherosclerosis: Role of Telomere in Endothelial Dysfunction. *Circulation* 105, 1541–1544. doi:10.1161/01.CIR.0000013836.85741.17
- Minamino, T., Komuro, I., 2007. Vascular Cell Senescence: Contribution to Atherosclerosis. *Circ. Res.* 100, 15–26. doi:10.1161/01.RES.0000256837.40544.4a
- Mitchell, G.F., Parise, H., Benjamin, E.J., Larson, M.G., Keyes, M.J., Vita, J.A., Vasan, R.S., Levy, D., 2004. Changes in Arterial Stiffness and Wave Reflection With Advancing Age in Healthy Men and Women: The Framingham Heart Study. *Hypertension* 43, 1239–1245. doi:10.1161/01.HYP.0000128420.01881.aa
- Ornish, D., Lin, J., Daubenmier, J., Weidner, G., Epel, E., Kemp, C., Magbanua, M.J.M., Marlin, R., Yglecias, L., Carroll, P.R., Blackburn, E.H., 2008. Increased telomerase activity and comprehensive lifestyle changes: a pilot study. *Lancet Oncol.* 9, 1048–1057. doi:10.1016/S1470-2045(08)70234-1
- O'Rourke, M.F., Safar, M.E., 2005. Relationship Between Aortic Stiffening and Microvascular Disease in Brain and Kidney: Cause and Logic of Therapy. *Hypertension* 46, 200–204. doi:10.1161/01.HYP.0000168052.00426.65
- Raqib, R., Alam, D.S., Sarker, P., Ahmad, S.M., Ara, G., Yunus, M., Moore, S.E., Fuchs, G., 2007. Low birth weight is associated with altered immune function in rural Bangladeshi children: a birth cohort study. *Am. J. Clin. Nutr.* 85, 845–852.
- Richards, J.B., Valdes, A.M., Gardner, J.P., Paximadas, D., Kimura, M., Nessa, A., Lu, X., Surdulescu, G.L., Swaminathan, R., Spector, T.D., others, 2007. Higher serum vitamin D concentrations are associated with longer leukocyte telomere length in women. *Am. J. Clin. Nutr.* 86, 1420–1425.
- Rivard, A., Fabre, J.-E., Silver, M., Chen, D., Murohara, T., Kearney, M., Magner, M., Asahara, T., Isner, J.M., 1999. Age-dependent impairment of angiogenesis. *Circulation* 99, 111–120.
- Robert, L., Robert, A.M., Jacotot, B., 1998. Elastin–elastase–atherosclerosis revisited. *Atherosclerosis* 140, 281–295. doi:10.1016/S0021-9150(98)00171-3
- Roberts, J.D., Dewland, T.A., Longoria, J., Fitzpatrick, A.L., Ziv, E., Hu, D., Lin, J., Glidden, D.V., Psaty, B.M., Burchard, E.G., Blackburn, E.H., Olgin, J.E., Heckbert, S.R., Marcus, G.M., 2014. Telomere Length and the Risk of Atrial Fibrillation: Insights Into the Role of Biological Versus Chronological Aging. *Circ. Arrhythm. Electrophysiol.* 7, 1026–1032. doi:10.1161/CIRCEP.114.001781
- Rutan, G.H., Hermanson, B., Bild, D.E., Kittner, S.J., LaBaw, F., Tell, G.S., 1992. Orthostatic hypotension in older adults. The Cardiovascular Health Study. CHS Collaborative Research Group. *Hypertension* 19, 508–519.

- Sakabe, K., Okazaki, R., 1966. A unique property of the replicating region of chromosomal DNA. *Biochim. Biophys. Acta* 129, 651–654.
- Sato, I., Morita, I., Kaji, K., Ikeda, M., Nagao, M., Murota, S., 1993. Reduction of Nitric Oxide Producing Activity Associated with in Vitro Aging in Cultured Human Umbilical Vein Endothelial Cell. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 195, 1070–1076. doi:10.1006/bbrc.1993.2153
- Savage, S.A., Stewart, B.J., Eckert, A., Kiley, M., Liao, J.S., Chanock, S.J., 2005. Genetic variation, nucleotide diversity, and linkage disequilibrium in seven telomere stability genes suggest that these genes may be under constraint. *Hum. Mutat.* 26, 343–350. doi:10.1002/humu.20226
- Sidorov, I., Kimura, M., Yashin, A., Aviv, A., 2009. Leukocyte telomere dynamics and human hematopoietic stem cell kinetics during somatic growth. *Exp. Hematol.* 37, 514–524. doi:10.1016/j.exphem.2008.11.009
- Spyridopoulos, I., 2004. Statins Enhance Migratory Capacity by Upregulation of the Telomere Repeat-Binding Factor TRF2 in Endothelial Progenitor Cells. *Circulation* 110, 3136–3142. doi:10.1161/01.CIR.0000142866.50300.EB
- Strandberg, T.E., Saijonmaa, O., Tilvis, R.S., Pitkala, K.H., Strandberg, A.Y., Miettinen, T.A., Fyhrquist, F., 2011. Association of Telomere Length in Older Men With Mortality and Midlife Body Mass Index and Smoking. *J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci.* 66A, 815–820. doi:10.1093/gerona/qlr064
- Strandberg, T.E., Saijonmaa, O., Tilvis, R.S., Pitkälä, K.H., Strandberg, A.Y., Salomaa, V., Miettinen, T.A., Fyhrquist, F., 2011. Telomere Length in Old Age and Cholesterol Across the Life Course. *J. Am. Geriatr. Soc.* 59, 1979–1981. doi:10.1111/j.1532-5415.2011.03610_13.x
- Strandberg, T., Strandberg, A., Saijonmaa, O., Tilvis, R., Pitkälä, K., Fyhrquist, F., 2012. Association between alcohol consumption in healthy midlife and telomere length in older men. The Helsinki Businessmen Study. *Eur. J. Epidemiol.* 27, 815–822. doi:10.1007/s10654-012-9728-0
- Tahvanainen, A.M., Tikkakoski, A.J., Leskinen, M.H., Nordhausen, K., Kähönen, M., Kööbi, T., Mustonen, J.T., Pörsti, I.H., 2012. Supine and upright haemodynamic effects of sublingual nitroglycerin and inhaled salbutamol: a double-blind, placebo-controlled, randomized study. *J. Hypertens.* 30, 297–306. doi:10.1097/HJH.0b013e32834e4b26
- Thorin, E., Thorin-Trescases, N., 2009. Vascular endothelial ageing, heartbeat after heartbeat. *Cardiovasc. Res.* 84, 24–32. doi:10.1093/cvr/cvp236
- Tikkakoski, A.J., Tahvanainen, A.M., Leskinen, M.H., Koskela, J.K., Haring, A., Viitala, J., Kähönen, M.A.P., Kööbi, T., Niemelä, O., Mustonen, J.T., Pörsti, I.H., 2013. Hemodynamic alterations in hypertensive patients at rest and during passive head-up tilt: *J. Hypertens.* 31, 906–915. doi:10.1097/HJH.0b013e32835ed605
- Torella, D., 2004. Cardiac Stem Cell and Myocyte Aging, Heart Failure, and Insulin-Like Growth Factor-1 Overexpression. *Circ. Res.* 94, 514–524. doi:10.1161/01.RES.0000117306.10142.50
- Valdes, A., Andrew, T., Gardner, J., Kimura, M., Oelsner, E., Cherkas, L., Aviv, A., Spector, T., 2005. Obesity, cigarette smoking, and telomere length in women. *The Lancet* 366, 662–664. doi:10.1016/S0140-6736(05)66630-5
- Van Bortel, L.M., Laurent, S., Boutouyrie, P., Chowienczyk, P., Cruickshank, J.K., De Backer, T., Filipovsky, J., Huybrechts, S., Mattace-Raso, F.U.S., Protogerou, A.D., Schillaci, G., Segers, P., Vermeersch, S., Weber, T., on behalf of the Artery Society, the E.S. of H.W.G. on V.S.

- and F. and the E.N. for N., 2012. Expert consensus document on the measurement of aortic stiffness in daily practice using carotid-femoral pulse wave velocity. *J. Hypertens.* 30.
- van der Harst, P., van der Steege, G., de Boer, R.A., Voors, A.A., Hall, A.S., Mulder, M.J., van Gilst, W.H., van Veldhuisen, D.J., 2007. Telomere Length of Circulating Leukocytes Is Decreased in Patients With Chronic Heart Failure. *J. Am. Coll. Cardiol.* 49, 1459–1464. doi:10.1016/j.jacc.2007.01.027
- Vera, E., Bernardes de Jesus, B., Foronda, M., Flores, J.M., Blasco, M.A., 2012. The rate of increase of short telomeres predicts longevity in mammals. *Cell Rep.* 2, 732–737. doi:10.1016/j.celrep.2012.08.023
- Voghel, G., Thorin-Trescases, N., Farhat, N., Nguyen, A., Villeneuve, L., Mamarbachi, A.M., Fortier, A., Perrault, L.P., Carrier, M., Thorin, E., 2007. Cellular senescence in endothelial cells from atherosclerotic patients is accelerated by oxidative stress associated with cardiovascular risk factors. *Mech. Ageing Dev.* 128, 662–671. doi:10.1016/j.mad.2007.09.006
- Voghel, G., Thorin-Trescases, N., Mamarbachi, A.M., Villeneuve, L., Mallette, F.A., Ferbeyre, G., Farhat, N., Perrault, L.P., Carrier, M., Thorin, E., 2010. Endogenous oxidative stress prevents telomerase-dependent immortalization of human endothelial cells. *Mech. Ageing Dev.* 131, 354–363. doi:10.1016/j.mad.2010.04.004
- von Zglinicki, T., 2002. Oxidative stress shortens telomeres. *Trends Biochem. Sci.* 27, 339–344. doi:10.1016/S0968-0004(02)02110-2
- Wang, 2011. Change of telomere length in angiotensin ii-induced human glomerular mesangial cell senescence and the protective role of losartan. *Mol. Med. Rep.* 4. doi:10.3892/mmr.2011.436
- Wang, E., 1995. Senescent human fibroblasts resist programmed cell death, and failure to suppress bcl2 is involved. *Cancer Res.* 55, 2284–2292.
- Wolf, H.K., Tuomilehto, J., Kuulasmaa, K., Domarkiene, S., Cepaitis, Z., Molarius, A., Sans, S., Dobson, A., Keil, U., Rywik, S., 1997. Blood pressure levels in the 41 populations of the WHO MONICA Project. *J. Hum. Hypertens.* 11, 733–742. doi:10.1038/sj.jhh.1000531
- Wolkowitz, O.M., Mellon, S.H., Epel, E.S., Lin, J., Dhabhar, F.S., Su, Y., Reus, V.I., Rosser, R., Burke, H.M., Kupferman, E., Compagnone, M., Nelson, J.C., Blackburn, E.H., 2011. Leukocyte Telomere Length in Major Depression: Correlations with Chronicity, Inflammation and Oxidative Stress - Preliminary Findings. *PLoS ONE* 6, e17837. doi:10.1371/journal.pone.0017837
- Xu, Q., Parks, C.G., DeRoo, L.A., Cawthon, R.M., Sandler, D.P., Chen, H., 2009. Multivitamin use and telomere length in women. *Am. J. Clin. Nutr.* 89, 1857–1863. doi:10.3945/ajcn.2008.26986
- Zee, R.Y., Castonguay, A.J., Barton, N.S., Ridker, P.M., 2010. Relative leukocyte telomere length and risk of incident ischemic stroke in men: a prospective, nested case-control approach. *Rejuvenation Res.* 13, 411–414.
- Zhang, J., Patel, J.M., Block, E.R., 2002. Enhanced apoptosis in prolonged cultures of senescent porcine pulmonary artery endothelial cells. *Mech. Ageing Dev.* 123, 613–625. doi:10.1016/S0047-6374(01)00412-2
- Zou, Y., Sfeir, A., Gryaznov, S.M., Shay, J.W., Wright, W.E., 2004. Does a sentinel or a subset of short telomeres determine replicative senescence? *Mol. Biol. Cell* 15, 3709–3718.